

Verificación de la Bioseguridad por Medio de Bioluminiscencia del Trifosfato de Adenosina (ATP) en los Vehículos de Cargue de Alimento en la Planta de Producción de Porcicultores

APA

Trabajo de Grado para Optar por el Título de Médico Veterinario

Daniel Tobón Rendón

Asesor

Luz Marina Roldán Aristizábal

MVZ, MSc

Corporación Universitaria Unilasallista.

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Medicina Veterinaria

Caldas, Antioquia

2024

Agradecimientos

Agradezco a mi familia que me apoyó durante todo mi proceso formativo, dándome palabras de aliento y motivándome a superar los retos que se presentaron, siempre creyendo en mí.

A mi novia Paula Arcila que fue mi fortaleza durante todo mi proceso universitario, ayudándome a crecer como persona y profesional, que estuvo en todas mis victorias y sobre todo en mis derrotas, quien fue mi luz durante este arduo camino y que hoy considero mi hogar.

A mis suegros y cuñado, quienes siempre me brindaron una mano cuando la necesité, convirtiéndose en mi segunda familia.

A la Corporación Universitaria Unilasallista, la cual fue mi lugar de formación, quien de la mano de mis profesores me brindaron las herramientas para crecer como un profesional íntegro en pro de la sociedad.

A mi profesora Luz Marina Roldan, quien ha sido mi mentora, la cual me abrió las puertas a la porcicultura, me enseñó a ser un profesional ético y la cual me ha apoyado en la elección de mi enfoque como médico veterinario.

A Porcicultores APA, quienes me brindaron la oportunidad de realizar mis prácticas profesionales en su empresa, donde llegué con muchas aspiraciones y deseos de crecer, allí encontré más que compañeros, amigos quienes me apoyaron desde el primer día, dándome la tranquilidad de expresar mis opiniones y por siempre tener la disposición de enseñar promoviendo la toma de decisiones basadas en argumentos técnicos y la construcción de un criterio profesional.

A Jessica Bermúdez, que como directora del departamento profesional de Porcicultores APA y mi jefe inmediato, creyó en mí desde el primer día, brindándome todo su apoyo y confianza para que yo adquiriera las habilidades necesarias y quien me motivó a ser un verdadero profesional.

Y no menos importante, me agradezco a mí por no rendirme ante las adversidades que se presentaron, por creer que si podía lograr mis sueños, por dar todos los días lo mejor de mí, no conformándome con lo suficiente, sino tratando ir siempre más allá, por creer que desde esta profesión puedo aportar positivamente a la sociedad sin perder la ética profesional.

Contenido

Resumen	1
Objetivos	2
Objetivo General	2
Objetivos Específicos	2
Introducción	3
Marco Teórico	5
Biofilm	5
¿Cómo se Evalúa la Limpieza Frecuentemente en la Práctica?	7
Bioseguridad	8
Consideraciones Para Realizar un Adecuado Proceso de Lavado y Desinfección en los Vehículos	8
ATP	10
Bioluminiscencia	11
Luminometría	12
<i>Principio de un Luminómetro</i>	13
¿Qué es una URL?	14
Metodología	16
Resultados	21
Análisis Descriptivo	21

<i>URL</i>	21
<i>Mediciones por Día</i>	24
<i>Mediciones por Hora del Día</i>	25
<i>URL por Sitio de Medición</i>	26
<i>URL por Tipo de Carrocería</i>	30
<i>URL por Ubicación</i>	34
<i>URL por Usuario</i>	38
<i>Combinación de Tipos de Carrocería</i>	42
Discusión	43
Momento de Medición	43
Lugar de Medición y Tipo de Material:	44
Ubicación del Muestreo	45
Conclusiones	46
Referencias	47

Lista de Figuras

Figura 1	<i>Biofilm polimicrobiano formado por P. aeruginosa (rojo) y S. epidermis (verde)</i>	5
Figura 2	<i>Etapas de formación de los Biofilms Bacterianos</i>	6
Figura 3	<i>Fotografía de microscopía de barrido de un biofilm de S. enteritidis.</i>	7
Figura 4	<i>Molécula de Trifosfato de Adenosina</i>	10
Figura 5	<i>Bioluminiscencia en las Luciérnagas</i>	11
Figura 6	<i>Reacción de bioluminiscencia entre en complejo luciferina-luciferasa</i>	12
Figura 7	<i>Tubo fotomultiplicador (PMT)</i>	13
Figura 8	<i>Luminómetro SystemSURE Plus e hisopo Ultrasnap de la marca Hygiena</i>	16
Figura 9	<i>Tipo de Carrocería CL Metálica - CS Metálica</i>	17
Figura 10	<i>Tipo de Carrocería CL Madera - CS Lona</i>	18
Figura 11	<i>Tipo de Carrocería CL Mixta - CS Metálica</i>	18
Figura 12	<i>Tipo de Carrocería CL Madera - CS Metálica</i>	19
Figura 13	<i>Tipo de Carrocería CL Madera - CS Madera</i>	19
Figura 14	<i>Histograma para URL/100 cm²</i>	22
Figura 15	<i>Histograma para Log (URL/100 cm²)</i>	23
Figura 16	<i>Número de Mediciones por Día</i>	24
Figura 17	<i>Log (URL) Número de Muestras por Día de Medición</i>	25
Figura 18	<i>Log (URL) Número de muestras por Hora de Medición</i>	26
Figura 19	<i>Número de Mediciones por Sitio</i>	27
Figura 20	<i>Densidad del Log (URL/100 cm²) por Sitio de Medición</i>	28
Figura 21	<i>Porcentaje (Aprobado/Rechazado) / Sitio de Medición</i>	29
Figura 22	<i>Distribución de las Muestras Según el Tipo de Carrocería</i>	31

Figura 23 <i>Distribución de la Densidad de las Mediciones en Log (URL/100 cm²) Según el Tipo de Carrocería</i>	32
Figura 24 <i>Porcentaje de Aprobados y Rechazados Según el Tipo de Carrocería</i>	33
Figura 25 <i>Distribución del Número de Muestras Según la Ubicación (Tipo de Carrocería/Sitio)</i>	35
Figura 26 <i>Densidad de las Mediciones en Log (URL/100 cm²) Según el Tipo de Carrocería y el Sitio de Medición</i>	36
Figura 27 <i>Porcentaje de Aprobados y Rechazados Según el Tipo de Carrocería y el Sitio de Medición.</i>	37
Figura 28 <i>Número de Mediciones por Usuario</i>	39
Figura 29 <i>Densidad de Muestreos Log (URL/100 cm²) por Usuario que lo Realizó</i>	40
Figura 30 <i>Porcentaje de Aceptación de Camiones de Acuerdo con la Combinación de Tipos de Carrocería en CS y CL</i>	42

Lista De Tablas

Tabla 1 <i>Resultados de URL/100 cm² de Todas las Evaluaciones Realizadas y su Transformación Logarítmica en Base 10</i>	21
Tabla 2 <i>Distribución del Número de Mediciones Según el Sitio de Medición</i>	26
Tabla 3 <i>Diferencia Estadística Según los Valores Promedio de Log (URL) por Sitio de Medición</i>	29
Tabla 4 <i>Distribución de Las Mediciones Según el Tipo de Carrocería</i>	30
Tabla 5 <i>Distribución de las Mediciones Según la Ubicación.</i>	34
Tabla 6 <i>Distribución de los Muestreos Según el Usuario que los Realizó</i>	38
Tabla 7 <i>Diferencia Estadística Según los Valores Promedio de Log (URL) por Usuario</i>	41

Resumen

Para mejorar el proceso de inspección de los vehículos que ingresan a cargar alimento en la planta de producción de Porcicultores APA, pasando de una inspección visual y subjetiva a una basada en herramientas que brinden información objetiva y rápida, se implementó la técnica de luminometría, la cual consiste en la medición de la luz generada por la reacción del complejo enzimático luciferina/luciferasa con el ATP de la materia orgánica (Bioluminiscencia del ATP) y su captación y traducción a URL (Unidad Relativa de Luz) por medio de un luminómetro.

Las mediciones se realizaron durante el periodo del 4 al 16 de septiembre del 2023 las 24 horas, realizando 572 mediciones, las cuales correspondieron a 1139 datos y 221 vehículos diferentes.

Los resultados obtenidos ponen en evidencia las malas condiciones de limpieza con la que llegan los vehículos a cargar el alimento, siendo el suelo de la carrocería, la zona que presentó niveles más altos de contaminación, a pesar de que visualmente se encontraban en óptimas condiciones la gran mayoría de estos, lo que concluye que la técnica de luminometría, ayuda a disminuir el riesgo de transmisión de enfermedades, ya que logra ser más efectiva y objetiva que la inspección habitual.

Objetivos

Objetivo General

- Verificar por medio de luminometría el proceso de limpieza y desinfección de los vehículos de transporte de alimento

Objetivos Específicos

- Cuantificar el número de vehículos negativos y positivos al muestreo
- Realizar análisis estadístico de las URL obtenidas en todos los vehículos que ingresan a la planta de producción de alimento de Porcicultores APA

Introducción

La producción porcícola está constantemente amenazada por diferentes patógenos que ponen en riesgo la salud tanto de los animales como la de los seres humanos que de una u otra manera participan de esta actividad agropecuaria y productiva, por tal motivo, cada día toma más fuerza el término “bioseguridad”, el cual hace referencia a todas aquellas prácticas, acciones, infraestructura y herramientas, que permitan proteger, en el caso de la porcicultura, a la granja del ingreso (bioexclusión) de microorganismos que tienen el potencial de generar morbilidad y a su vez impedir la salida (biocontención), de aquellos que ya se encuentren en el predio.

Una de estas acciones es el lavado y desinfección de los vehículos que transportan el alimento para los animales, ya que este puede hacer el papel de fómite (objeto inerte que tiene la capacidad de vehiculizar un microorganismo), ingresando así patógenos que posteriormente tendrán contacto con los animales, poniéndolos en riesgo. Para evaluar este proceso normalmente se realiza una inspección visual de los vehículos, donde no se observe suciedad o residuos de materia orgánica que puedan indicar un mal proceso de limpieza, pero esta metodología se queda corta y es poco efectiva, ya que la apreciación del inspector siempre será subjetiva, debido a que los microorganismos no son visibles a simple vista, por lo que observar una superficie libre de suciedad no garantiza su ausencia.

Por este motivo de baja confiabilidad del resultado, se implementó en la planta de producción de alimentos de Porcicultores APA ubicada en Girardota, Antioquia, Colombia, la técnica de luminometría a los vehículos que se encontraban en espera para ingresar a cargar alimento, esta se basa en el concepto de la bioluminiscencia del ATP, la cual está presente en la naturaleza, como por ejemplo en el apéndice de las luciérnagas; esta técnica arroja un resultado

rápido y objetivo, aspecto importante debido a que brinda efectividad y agilidad en la inspección, para aprobar o rechazar el ingreso de vehículos basados en la bioseguridad.

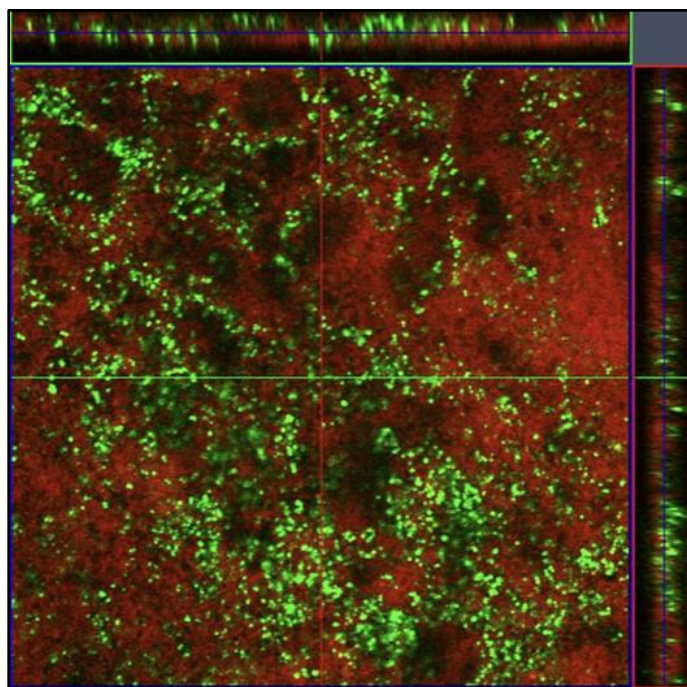
Marco Teórico

Biofilm

Cuando se piensa en microorganismos, lo más común es creer que se encuentran en las superficies de forma individual o estado plantónico, pero en verdad es que esto es muy raro, lo más común es encontrarlos en agregaciones, formando así comunidades sedentarias llamadas biofilms. Algunas superficies donde se pueden hallar son tejidos de plantas y animales. (Hollmann & Perkins)

Figura 1

Biofilm polimicrobiano formado por P. aeruginosa (rojo) y S. epidermis (verde).



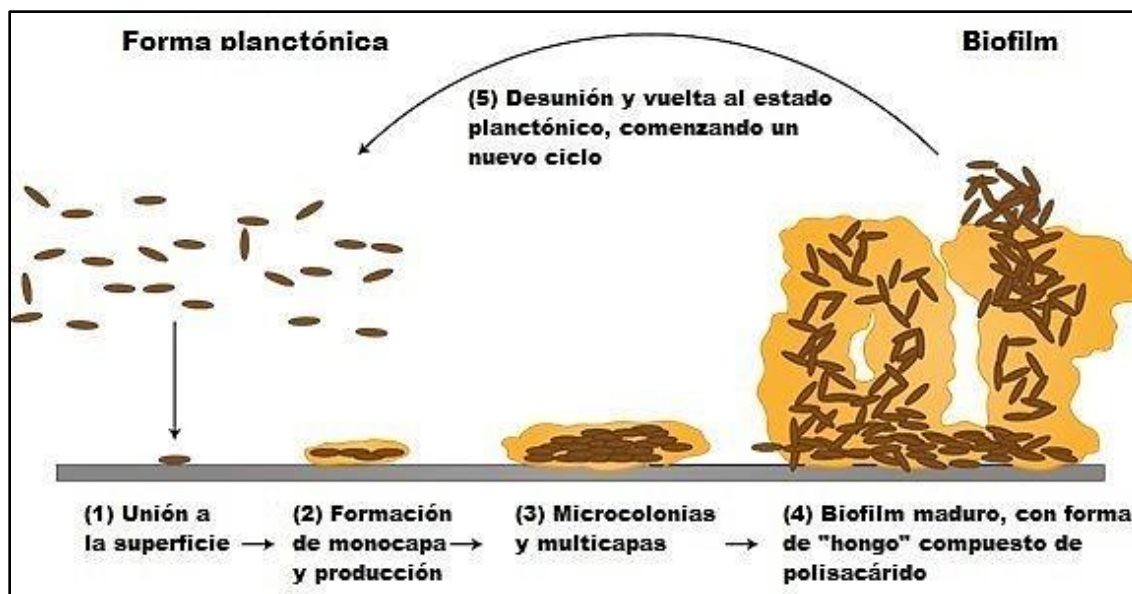
Fuente: Adaptado de Biofilms y su Papel en la Patogénesis por (Hollmann & Perkins)

Los biofilms pueden estar conformados por diferentes comunidades bacterianas y fúngicas, lo que les permite el intercambio de nutrientes, productos moleculares y la eliminación de productos tóxicos, actuando de forma sinérgica. (Hollmann & Perkins)

Otro aspecto destacable de los biofilms es la capacidad de protegerse de moléculas antimicrobianas, fuerzas de tracción e incluso del sistema inmunitario y desinfectantes. (Hollmann & Perkins)

Figura 2

Etapas de formación de los Biofilms Bacterianos.



Fuente: Adaptado de *Biofilms y su Papel en la Patogénesis* por (Hollmann & Perkins)

Debido a las características ya mencionadas, como la matriz extracelular que el mismo microorganismo produce y que favorece su adhesión a las superficies, los biofilms son una de las formas de vida más exitosas en el planeta. (Sandoval, y otros, 2018)

Del 80 al 99 % de los microorganismos del planeta se encuentran en estado sésil, lo que lleva a los biofilm a ser considerados como la forma predominante de vida microbiana, caracterizadas por tener una alta capacidad de colonizar nuevas superficies y por su alta tolerancia al estrés medioambiental. (Patiño Bello, Pérez Acevedo, & Torres Caicedo, 2018)

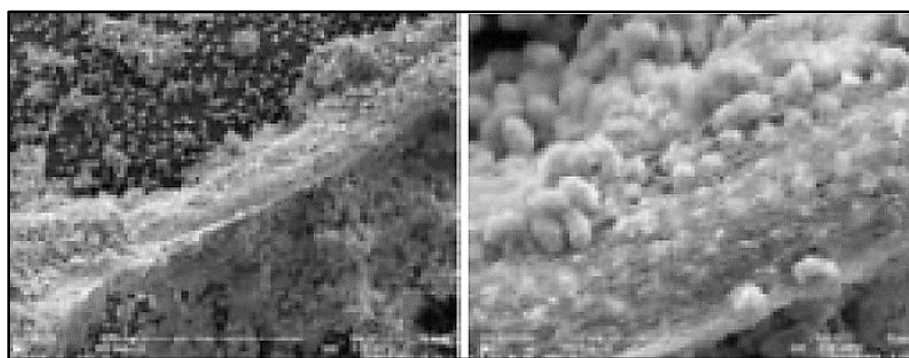
Anthony Van Leeuwenhoek (1632–1723) describió por primera vez esta estructura microbiana cuando realizó observación microscópica de una muestra de su cavidad oral,

evidenciando así la agregación de microorganismos inmersos en una matriz extracelular. (Fernández B, 2019)

Pero fue el Louis Pasteur (1822-1895) quién realizó la primera descripción de estas estructuras en muestras de alimentos donde observó la agregación bacteriana. (Romero González, 2020)

Figura 3

Fotografía de microscopía de barrido de un biofilm de S. enteritidis.



Fuente: Adaptado de Biofilms Bacterianos e Infección por (Lasa, del Pozo, Penadés, & Leiv, 2005)

¿Cómo se Evalúa la Limpieza Frecuentemente en la Práctica?

La forma comúnmente empleada para evaluar los procesos de limpieza y desinfección es la inspección visual, es decir, el inspector en base a su observación determina si una superficie está o no limpia, lo que conlleva a un resultado de carácter subjetivo, por lo que es necesario encontrar alternativas de inspección que brinden información de carácter cuantitativo, de forma inmediata, que permita realizar un análisis y así tomar decisiones correctivas en pro de la bioseguridad.

Bioseguridad

Se define como el conjunto de medidas, normas y procedimientos implementados para evitar el riesgo para la salud proveniente de la exposición a agentes biológicos que causan enfermedad.

Por esto, “la implementación de las medidas que reducen el riesgo a que agentes infecciosos sean introducidos y diseminados en una granja, área o región, requiere que las personas involucradas lleven a cabo un conjunto de actitudes y comportamientos en todas las actividades que realicen en su trabajo”. (OIE, 2006)

Uno de los aspectos que deben ser evaluados para realizar una bioseguridad adecuada, es la limpieza de los vehículos utilizados para el transporte de alimento, ya que estos ingresan a la granja y si no contaron con un proceso de limpieza y desinfección adecuado o fue nulo, introducirán los microorganismos que lleven consigo, también se dará una contaminación del alimento que posteriormente estará en contacto con diferentes superficies y elementos dentro de la granja, hasta tener contacto con los animales, lo cual tiene una alta probabilidad (dependiendo del agente y el estado inmunológico del animal) de generar morbilidad y acarrear diferentes pérdidas económicas.

Consideraciones Para Realizar un Adecuado Proceso de Lavado y Desinfección en los Vehículos

El primer aspecto a tener en cuenta, es retirar toda la materia orgánica como excremento u otros desechos, para lo cual se puede usar agua a presión (debe estar en óptimas condiciones microbiológicas, idealmente que sea potable, o realizarle un proceso de sanitización como el clorado), cepillos, raspadores, escobas, palas, entre otros (FAO, s.f.); lo importante es dejar la superficie lo más libre posible, para de esta manera prepararla para el siguiente paso, el cual es el

uso de un detergente de preferencia alcalino, ya que este tiene gran capacidad de detergencia, o de limpieza; según (Basicfarm, 2020) “esta característica se debe al desplazamiento de contaminantes por materiales tensoactivos y reforzantes alcalinos; este tipo de limpiador puede disolver grasas, aceites y otros depósitos a base de proteínas, y permiten que se enjuaguen fácilmente.”

La mayoría de las veces, también contienen agentes dispersantes para evitar que se vuelvan a depositar quelantes o suciedad disuelta que pueda atacar las piezas metálicas, lo que provocaría la oxidación de estas. (Basicfarm, 2020)

Para su correcto uso se debe tener la superficie humedecida completamente, aplicar el detergente y ayudarlo estregando con cepillos para así favorecer y potenciar la capacidad penetrante del mismo, es importante no dejar secar el detergente ya que eso puede provocar que se adhiera más a la superficie y luego sea más difícil su remoción, por lo que es recomendable enjuagar con abundante agua inmediatamente se termine de estregar todas las superficies.

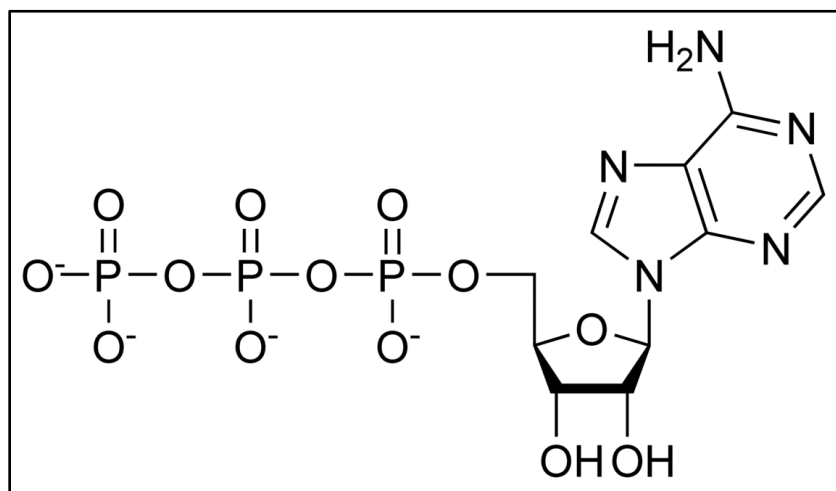
Posterior al proceso de lavado, donde gracias a las características ya mencionadas de los detergentes alcalinos, se ha removido la película de matriz extracelular, dañando así la estructura del biofilm, lo que deja expuestas a las bacterias, sin embargo, la superficie debe secarse ya que como resultado del proceso de lavado queda una micropelícula de agua, la cual impedirá un buen contacto entre el desinfectante y el agente; cuando la superficie este completamente seca, se aplica el desinfectante, procurando que todas las superficies queden muy bien humedecidas con el producto y se deja secar nuevamente.

ATP

El trifosfato de adenosina (ATP) es una molécula de carácter orgánico, que es sintetizada en las mitocondrias de las células vivas, las cuales son usadas por estas como principal fuente de energía.

Figura 4

Molécula de Trifosfato de Adenosina



Fuente: Adaptado de (Pérez, s.f.)

El ATP es una molécula pequeña y relativamente simple (Figura 4), pero tiene el potencial de una rápida explosión de energía que es aprovechada por las células para realizar un trabajo. “Se puede considerar que esta molécula es la moneda de energía primaria de las células, de la misma manera que el dinero es la moneda que las personas intercambian por cosas que necesitan. El ATP se utiliza para impulsar la mayoría de las reacciones celulares que requieren energía”. (Rye, y otros, 2016)

“Las células animales, vegetales, bacterianas, de levadura y de moho producen y descomponen ATP con la finalidad de realizar procesos biológicos”. (Hygiena, 2013)

“La presencia de ATP en una superficie indica que no se ha realizado una correcta limpieza y desinfección y que por ende tiene el potencial de albergar y sustentar el crecimiento bacteriano”. (Higienda, 2013)

Bioluminiscencia

La reacción entre la luciferina y la enzima luciferasa es muy conocida y altamente estudiada, la misma no está termodinámicamente favorecida, pero en presencia de ATP produce un compuesto que emite luz visible. Esta reacción aparece en la naturaleza, por ejemplo, es la causa de la luminosidad de las luciérnagas. (Di Lalla, 2019)

Figura 5

Bioluminiscencia en las Luciérnagas



Fuente: Adaptado de (Romero H, 2023)

Es un proceso biológico específico en el que genera luz gracias a una reacción química dentro de un organismo vivo. En el caso de la detección de ATP, la bioluminiscencia se produce cuando el ATP (trifosfato de adenosina) reacciona con el complejo enzimático luciferina/luciferasa. (Bustamante, y otros, 2018)

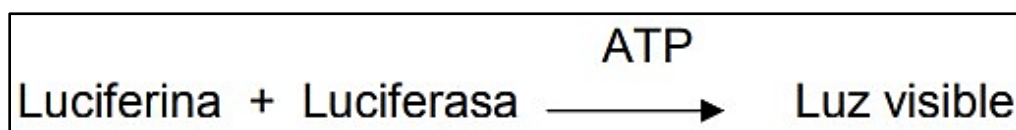
La bioquímica del proceso consiste en la oxidación de la proteína luciferina por catalización de la enzima luciferasa en presencia del ATP. (Ilyina, y otros, 1998)

Luminometría

“La luminometría es una técnica utilizada para la determinación de un compuesto químico mediante la cuantificación de energía lumínica que el mismo emite en determinadas condiciones. Esta energía generalmente es emitida como luz visible o UV”. (Di Lalla, 2019)

Figura 6

Reacción de bioluminiscencia entre en complejo luciferina-luciferasa



Fuente: Adaptado de (Di Lalla, 2019)

Esta reacción permite una determinación muy precisa de ATP mediante la técnica de luminometría. (Di Lalla, 2019)

Es una técnica que mide la luz emitida en ciertas reacciones químicas. En el contexto de la detección de ATP, se utiliza un dispositivo llamado luminómetro para medir la cantidad de luz emitida durante la reacción de bioluminiscencia.

El luminómetro detecta ATP de forma indirecta mediante una reacción química que da como resultado luz, lo que realmente detecta esta técnica en unidades de RLU o URL (unidades relativas de luz).

Se recoge una muestra utilizando un hisopo para ATP, el cual viene con las pruebas de superficie ya humedecido con la química (tampón) que facilita la obtención de cualquier material biológico (ATP) en una superficie húmeda o seca. (Hygiena, 2013)

Una vez que la muestra se recolecta y se expone a la química (tampón) en el dispositivo, se liberará el ATP contenido dentro de las células recolectadas. El ATP liberado desde el interior de estas células, junto con cualquier ATP libre recogido de la superficie por el hisopo, ahora está disponible para reaccionar con la química en la bombilla del dispositivo. (Higienda, 2013)

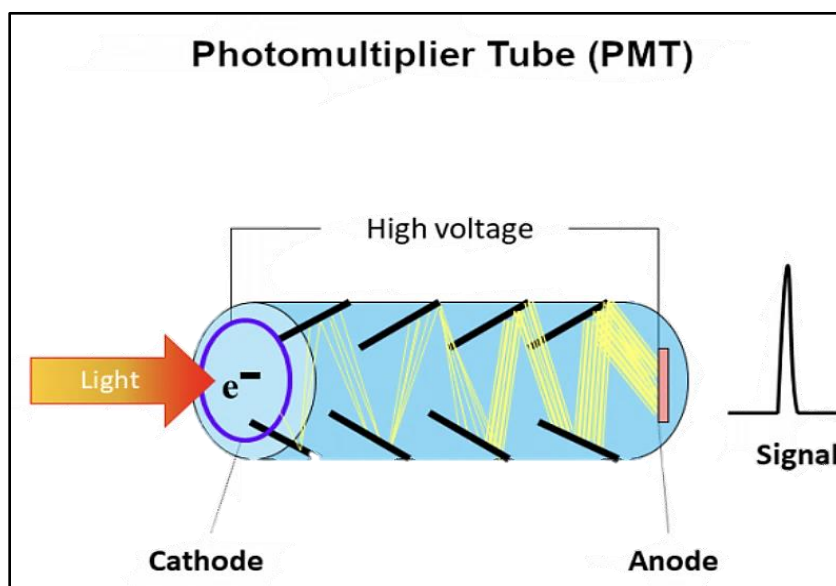
“La cantidad de luz detectada es directamente proporcional a la cantidad de ATP recolectada y, en consecuencia, es proporcional a la cantidad de residuos en la muestra analizada. Cuanto mayor sea la lectura, mayor será la cantidad de contaminación en la muestra”. (Higienda, 2013)

Principio de un Luminómetro

Para poder medir las cantidades más pequeñas de luz, los luminómetros utilizan un tubo fotomultiplicador (PMT) (Figura 7), que como su nombre lo indica, multiplica o amplifica en gran medida las señales recibidas, haciendo que las señales débiles sean puedan detectar. (Berthold, s.f.)

Figura 7

Tubo fotomultiplicador (PMT)



Fuente: Adaptado de (Berthold, s.f.)

El principio de funcionamiento de un PMT es el siguiente:

1. “Los fotones que golpean un fotocátodo en la ventana de entrada del PMT producen electrones como consecuencia del efecto fotoeléctrico”. (Berthold, s.f.)
2. “Esos electrones son acelerados por un campo de alto voltaje y multiplicados en número dentro de una cadena de dinodos por el proceso de emisión secundaria”. (Berthold, s.f.)
3. “Los electrones amplificados finalmente llegan al ánodo, que está conectado a un circuito de procesamiento de salida. El circuito traduce la señal entrante en una señal de salida”. (Berthold, s.f.)

¿Qué es una URL?

“La luz producida por la reacción de luciferina/luciferasa y ATP en el hisopo se emite en forma de fotones. Un fotón es una partícula elemental y la unidad básica de la luz. el luminómetro detecta estos fotones y los muestra directamente como valores URL. Cuanta más luz detecte el luminómetro, mayor será el valor de URL”. (Higienda, 2013)

Las URL son las Unidades Relativas de Luz por 100 cm²; “La cantidad de luz emitida durante la reacción enzimática se expresa en términos de luminiscencia relativa o unidades de luz (URL), que se correlacionan directamente con la cantidad de ATP presente y, por tanto, con el nivel de carga biológica en el área muestreada” (Alvarado, Cabahug, and Predicala 2022).

El luminómetro detecta el ATP total, no sólo el ATP de bacterias, levaduras y moho, sino también el ATP de cualquier elemento orgánico de la muestra. Por lo tanto, un valor de URL no es lo mismo que una unidad formadora de colonias (UFC). (Higienda, 2013)

Debido a que “el luminómetro detecta ATP total, se desconoce si el resultado URL mostrado por el luminómetro se debe a la detección de ATP microbiano, ATP residual o una

combinación de ambos. Por lo tanto, no se puede realizar una comparación entre los valores RLU de ATP y los recuentos en placa estándar (SPC)”; es decir, URL no equivalente a UFC. (Higiene, 2013), pero si brinda información de que la superficie no está limpia.

“La verdadera contaminación microbiana solo puede determinarse mediante un método de recuento en placa estándar que puede tardar hasta 48 horas en obtener resultados. El luminómetro es capaz de proporcionar resultados en 15 segundos ofreciendo un enfoque en tiempo real para el monitoreo de higiene/saneamiento”. (Higiene, 2013)

“La luminometría no pretende reemplazar las pruebas microbianas. Puede ser una herramienta eficaz cuando se incorpora a un análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP), buenas prácticas de fabricación (GMP) o un plan de saneamiento”. (Higiene, 2013)

Metodología

El proyecto se realizó en la planta de producción de alimentos concentrados de Porcicultores APA, ubicada en el municipio de Girardota (Antioquia).

Se realizó una revisión bibliográfica que permitiera construir una metodología que se ajustara a las condiciones de la porcicultura en Colombia.

El periodo evaluado fue del 4 al 16 de septiembre del 2023 las 24 horas, donde se implementó el luminómetro SystemSURE Plus de Hygiena y los hisopos Ultrasnap de la misma marca, lo que arrojó mediciones en URL, se realizaron 572 mediciones, las cuales correspondieron a 1139 datos y 221 vehículos diferentes.

Figura 8

Luminómetro SystemSURE Plus e hisopo Ultrasnap de la marca Hygiena



Fuente: Adaptado de (Hygiena, 2013)

Los vehículos fueron clasificados según el tipo de carrocería de la siguiente forma:

- Metálica
- Madera
- Mixta (metálica y madera)
- Platón (camioneta tipo pickup)
- Termoking (transporte de canales de planta de beneficio a carnicerías o expendios)
- Lona. (sobresuelo)

Las mediciones se clasificaron según el lugar del muestreo:

- CS: Carrocería Suelo
- CL: Carrocería Lateral
- C: Carrocería (aplica para platón)

Ejemplo de algunas combinaciones que se presentaron en los vehículos referentes a el tipo de carrocería y el lugar del muestreo:

Figura 9

Tipo de Carrocería CL Metálica - CS Metálica



Fuente: fotografía propia.

Figura 10

Tipo de Carrocería CL Madera - CS Lona



Fuente: fotografía propia.

Figura 11

Tipo de Carrocería CL Mixta - CS Metálica



Fuente: fotografía propia.

Figura 12

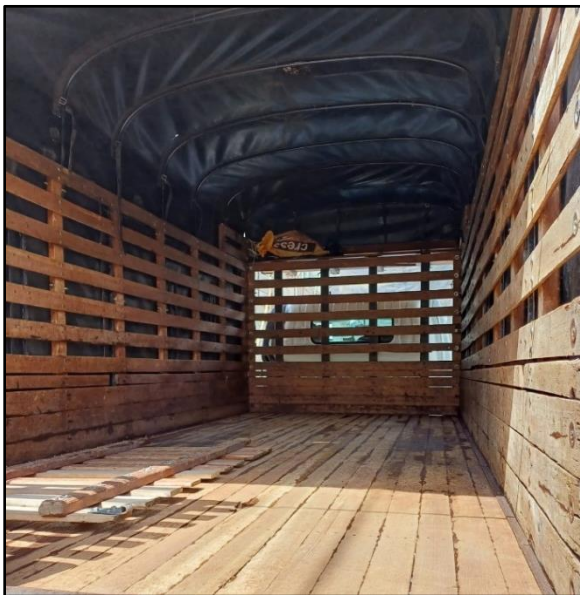
Tipo de Carrocería CL Madera - CS Metálica



Fuente: fotografía propia.

Figura 13

Tipo de Carrocería CL Madera - CS Madera



Fuente: fotografía propia.

La clasificación de los resultados obtenidos se realizó en base a lo reportado por (Cabahug, Alvarado, & Predicala, 2016) donde establecieron que:

- Aprobado = si $URL \leq 430 \text{ URL}/100 \text{ cm}^2$
- Rechazado = si $URL > 430 \text{ URL}/100 \text{ cm}^2$

Donde “aprobado” significa que el vehículo cumple con las condiciones mínimas de limpieza para ingresar a la planta sin ser una amenaza de contaminación.

Donde “rechazado” significa que el vehículo no cumple con las condiciones mínimas de limpieza para ingresar a la planta sin ser una amenaza de contaminación.

Se realizó un análisis estadístico de la información recolectada, con el fin de realizar una evaluación objetiva del grado de contaminación con el que llegan los vehículos a cargar alimento y así determinar mediante una prueba rápida (luminometría) que vehículos cumplen con las condiciones de limpieza y desinfección mínimas para ingresar a cargar alimento en la planta de Porcicultores APA

En el análisis se implementó la transformación logarítmica en base 10 de la variable URL con el fin de facilitar la interpretación de la información.

Resultados

Análisis Descriptivo

Para el análisis estadístico, se realizó una transformación logarítmica en base 10 de esta variable.

URL

En la siguiente tabla se presentan los resultados de URL/100 cm² de todas las evaluaciones realizadas.

Tabla 1

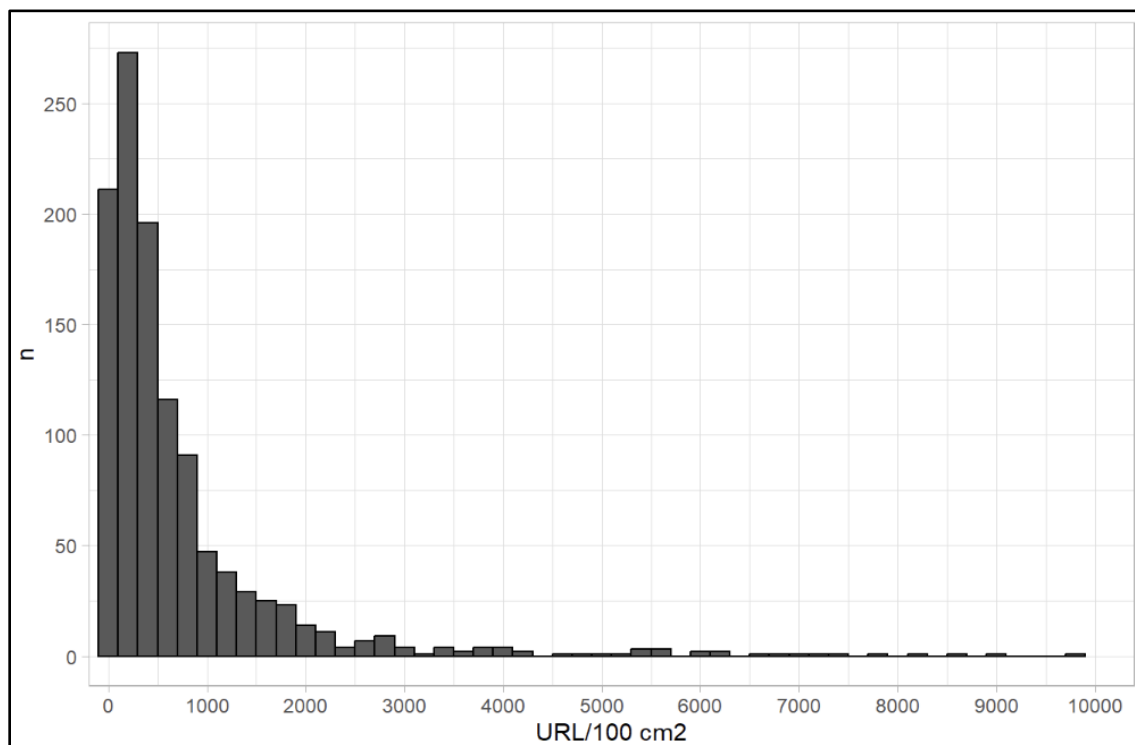
Resultados de URL/100 cm² de Todas las Evaluaciones Realizadas y su Transformación Logarítmica en Base 10

Variable	n	Promedio	Desv. Estándar	Coef. Variación	Mediana	Mínimo	Máximo	n Ceros	20%	80%
URL	1,139	728.62	1,114.32	152.9%	383.00	0	9,888.00	18	111.00	992.40
log(URL)	1,139	2.48	0.69	28.0%	2.58	0	4.00	22	2.05	3.00

Fuente: tabla propia.

Figura 14

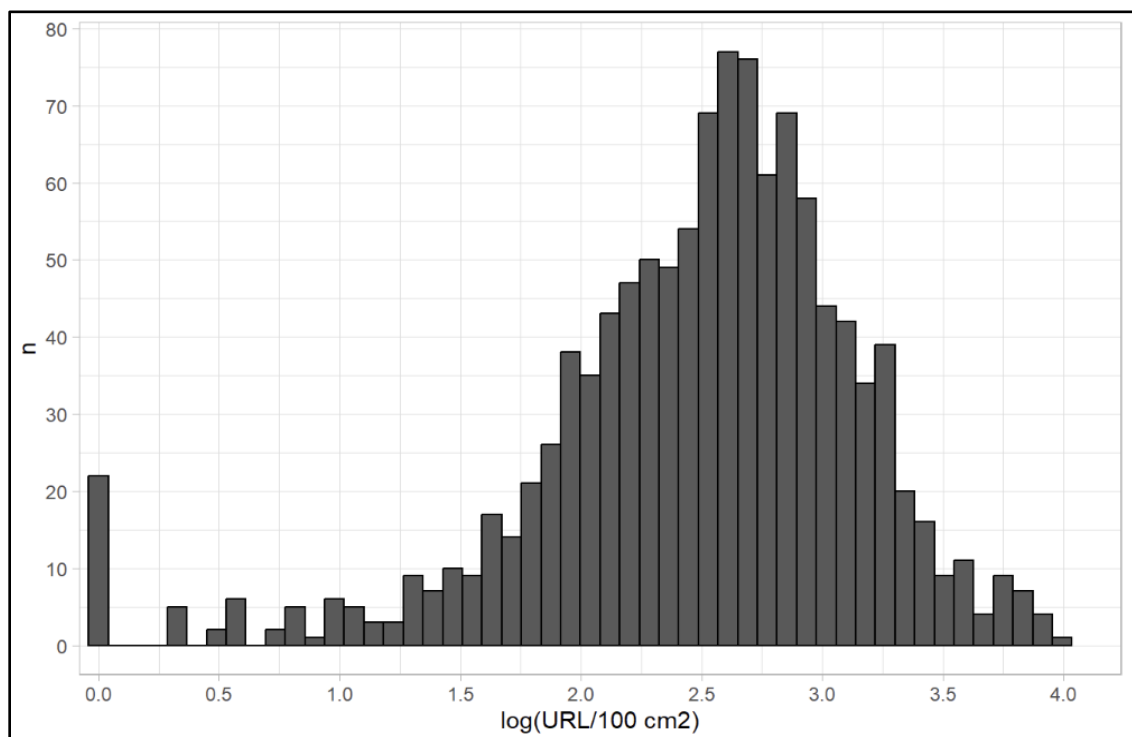
Histograma para URL/100 cm²



Fuente: gráfico propio.

Figura 15

Histograma para Log (URL/100 cm²)



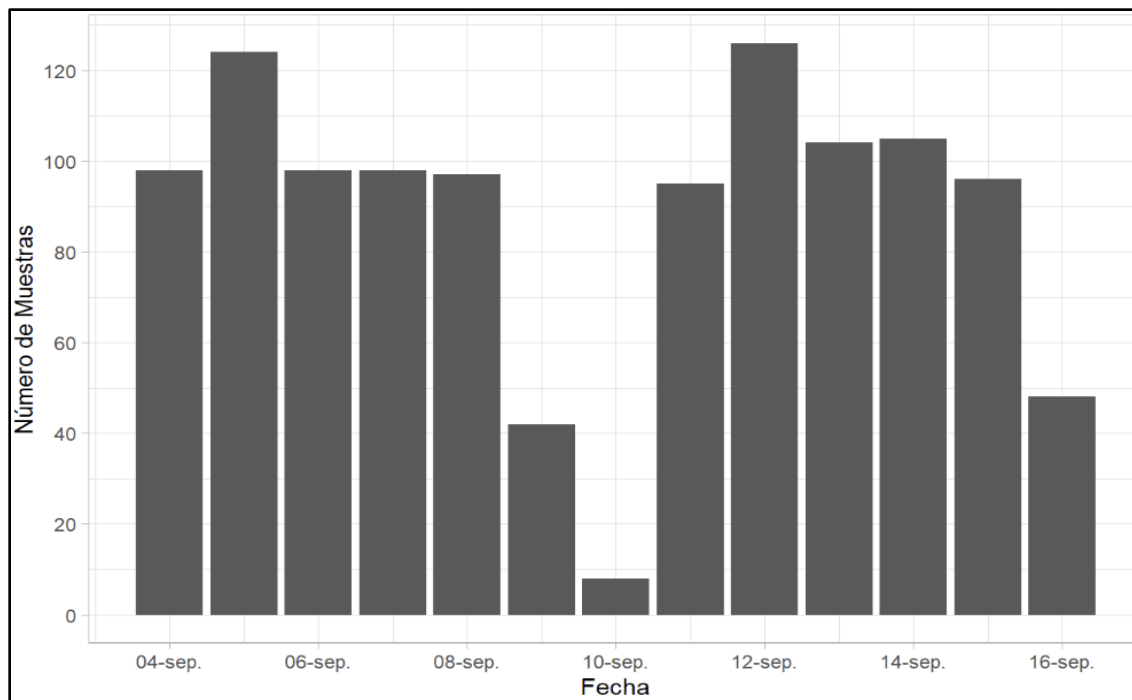
Fuente: gráfico propio.

Mediciones por Día

Se presenta la cantidad de mediciones realizadas por día, posteriormente, se muestran la distribución de los valores observados en cada día de medición.

Figura 16

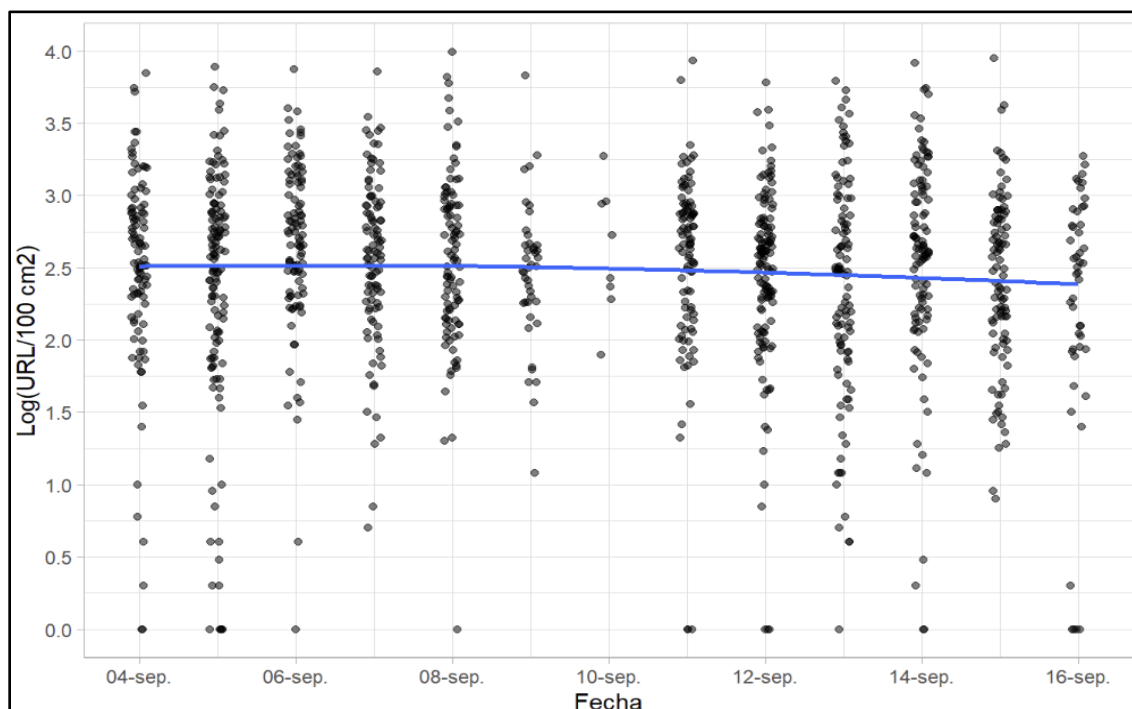
Número de Mediciones por Día



Fuente: gráfico propio.

Figura 17

Log (URL) Número de Muestras por Día de Medición



Fuente: gráfico propio.

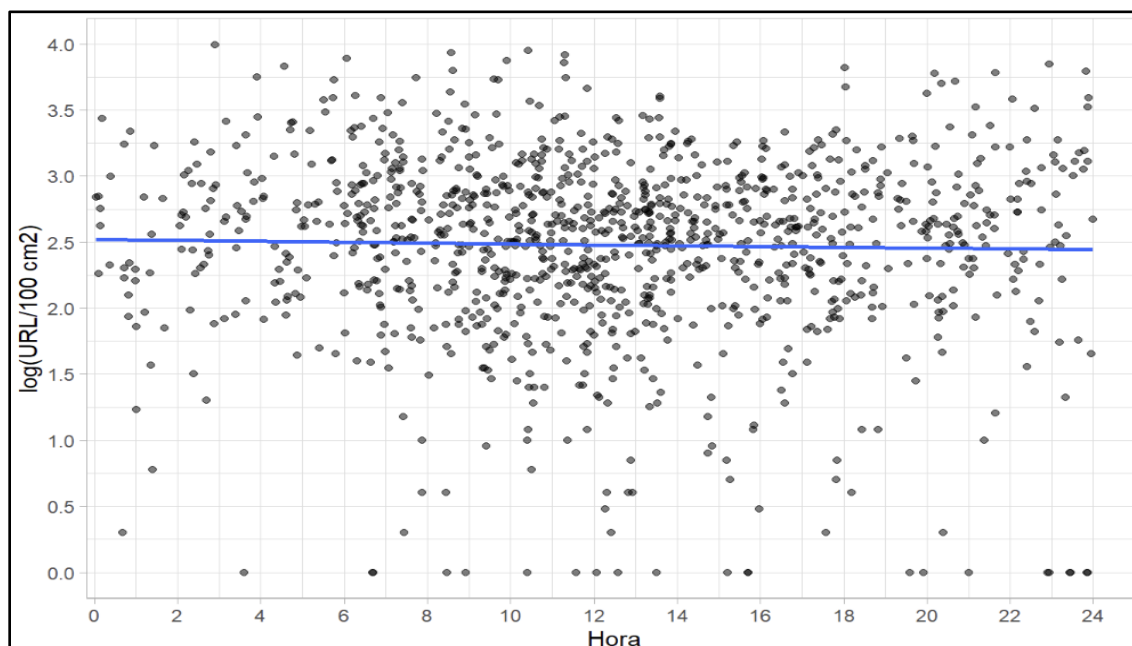
A través de los diferentes días de evaluación se observan tendencias y distribuciones aparentemente similares, indicando que no hubo efecto en la medición de URL por el día de medición.

Mediciones por Hora del Día

Las mediciones se realizaron durante todo el día, en la siguiente gráfica se presenta la distribución de los resultados de URL de acuerdo con la hora en que se realizó la medición. Aparentemente no hubo efecto de la hora de medición sobre el resultado obtenido en las mediciones realizadas.

Figura 18

Log (URL) Número de muestreos por Hora de Medición



Fuente: gráfico propio.

URL por Sitio de Medición

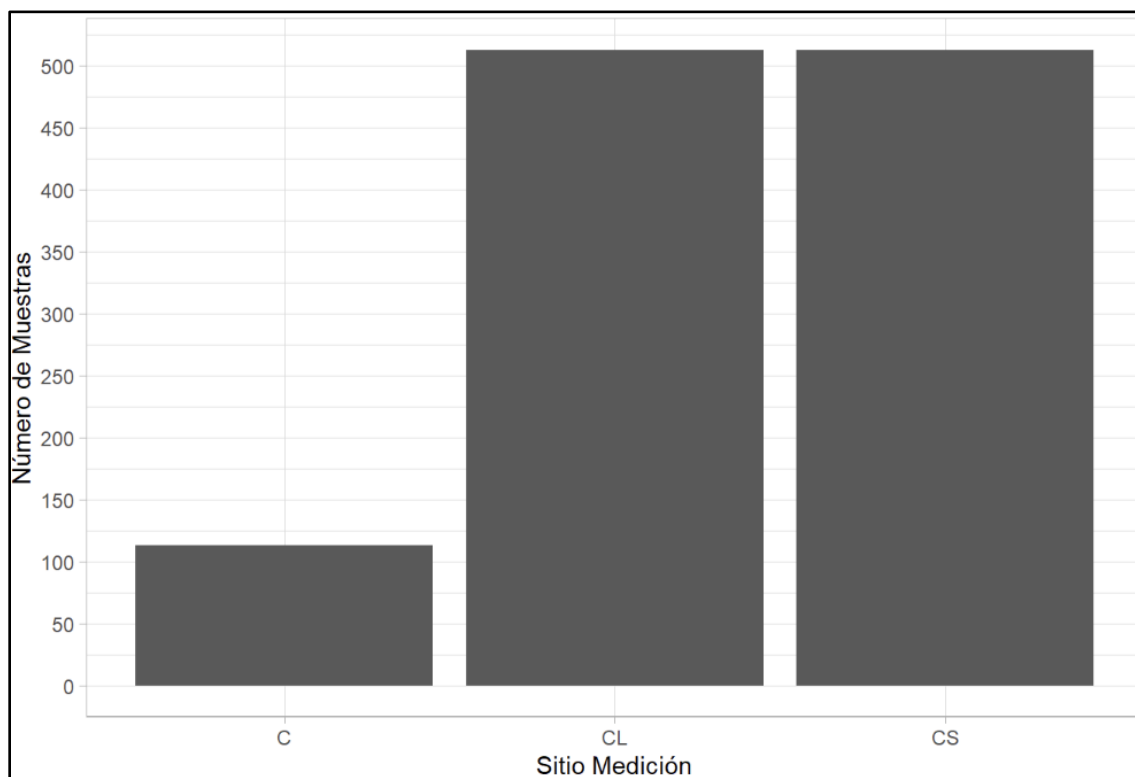
La mayor cantidad de mediciones se realizaron en CL (Carrocería Lateral) y en CS (Carrocería Suelo). Los sitios de medición C (Carrocería) correspondieron los vehículos con carrocerías Platón y Termoking.

Tabla 2

Distribución del Número de Mediciones Según el Sitio de Medición

Variable	Sitio	n	Promedio	Desv. Estándar	Coef. Variación	Mediana	Mínimo	Máximo	n Ceros
URL	C	113	593.13	927.17	156.32%	316.00	0.00	5,942.00	9
	CL	513	584.19	1,091.35	186.81%	230.00	0.00	8,946.00	3
	CS	513	902.88	1,151.27	127.51%	566.00	0.00	9,888.00	6
log(URL)	C	113	2.23	0.93	41.64%	2.50	0.00	3.77	10
	CL	513	2.35	0.64	27.31%	2.36	0.00	3.95	3
	CS	513	2.66	0.64	23.96%	2.75	0.00	4.00	9

Fuente: tabla propia.

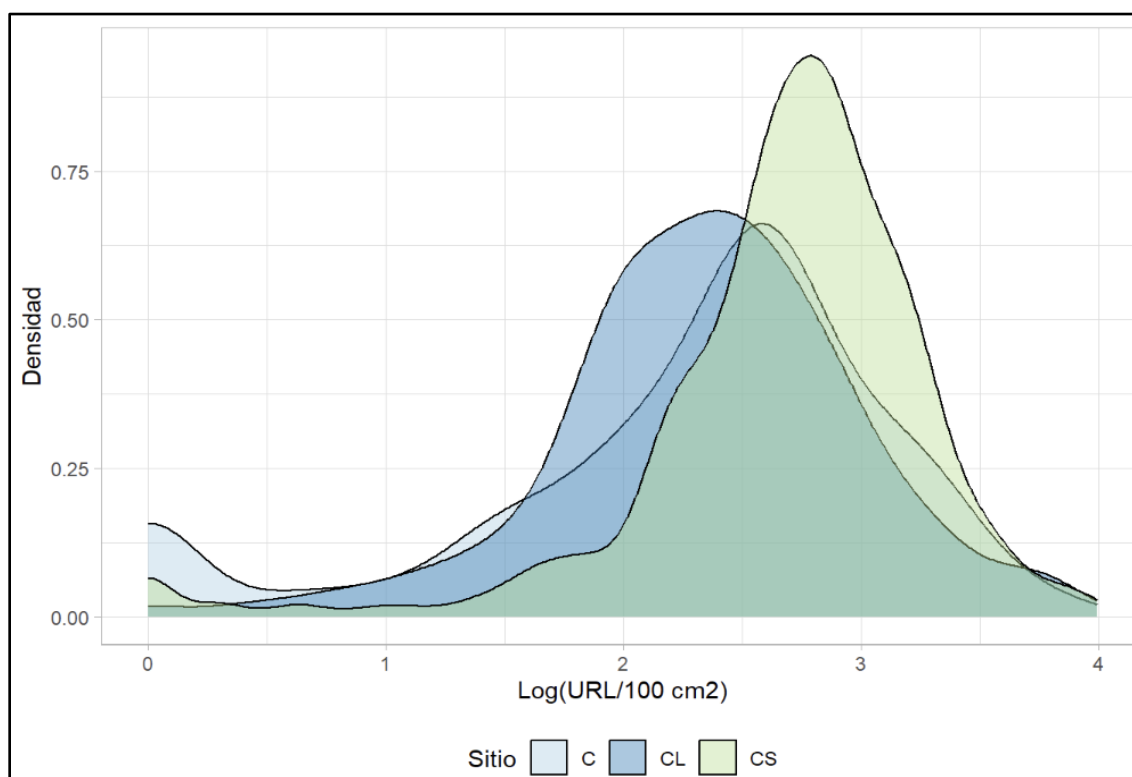
Figura 19*Número de Mediciones por Sitio*

Fuente: gráfico propio.

En las siguientes gráficas se muestran los diagramas de densidad para las URL/100 cm² para cada sitio de medición.

Figura 20

Densidad del Log (URL/100 cm²) por Sitio de Medición



Fuente: gráfico propio.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en los valores promedio de URL entre sitios de medición. En general, en CS los valores de promedio URL fueron mayores que en C y CL.

Tabla 3

Diferencia Estadística Según los Valores Promedio de Log (URL) por Sitio de Medición

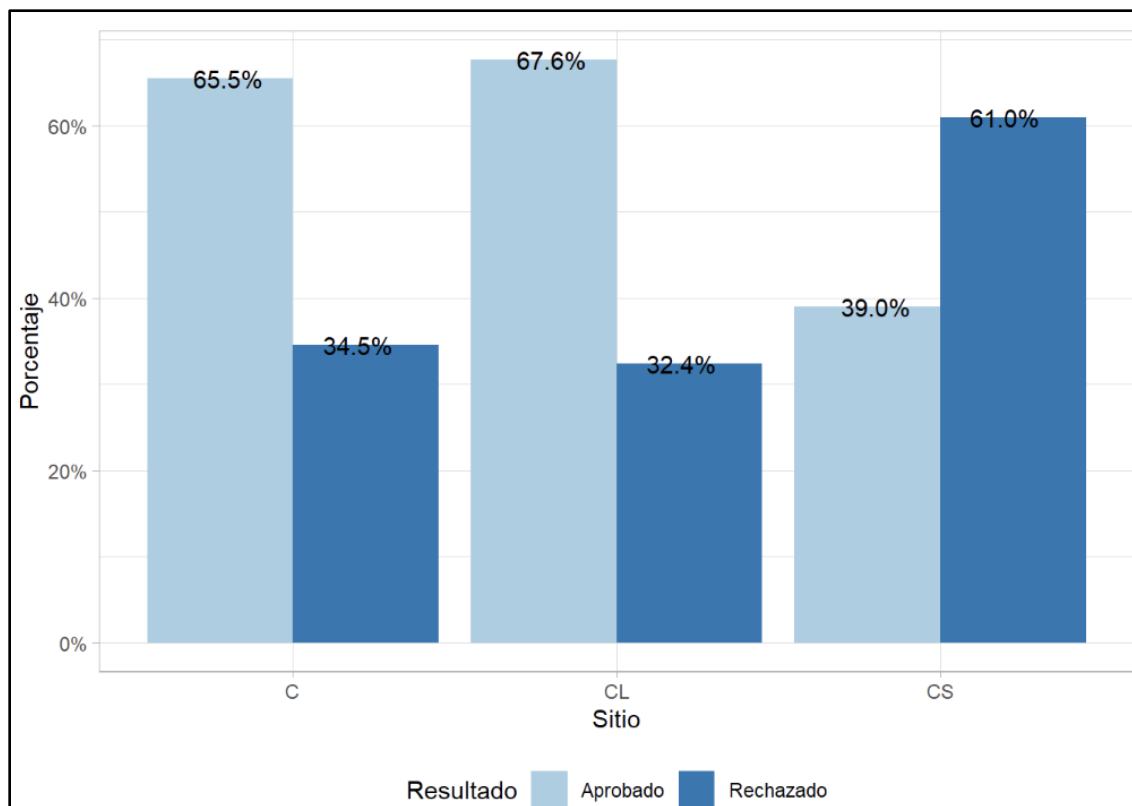
Sitio	Log(URL)	Grupo
CS	2.66	a
CL	2.35	b
C	2.23	b

Fuente: tabla propia.

En la siguiente gráfica se presenta la proporción de resultados (Aprobado/Rechazado) por sitio de medición teniendo como punto de corte 430 URL

Figura 21

Porcentaje (Aprobado/Rechazado) / Sitio de Medición



Fuente: gráfico propio.

URL por Tipo de Carrocería

Tabla 4

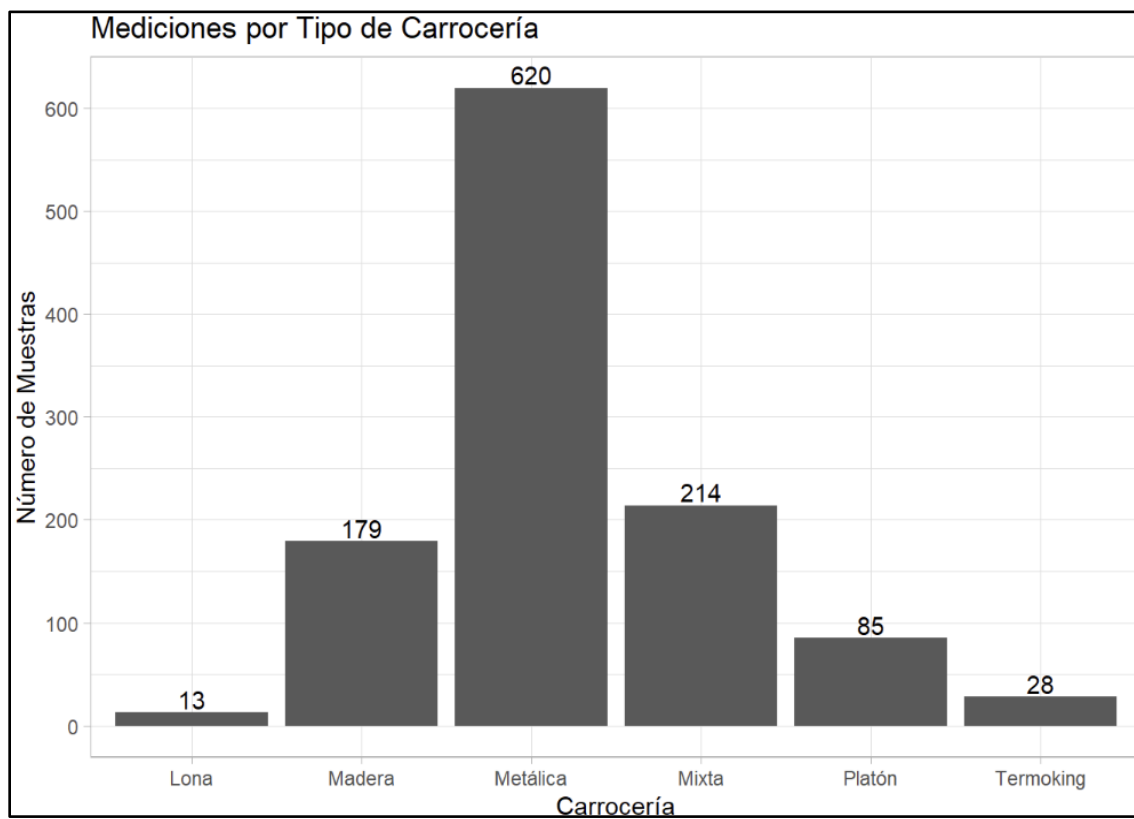
Distribución de Las Mediciones Según el Tipo de Carrocería

Variable	Carrocería	n	Promedio	Desv. Estándar	Coef. Variación	Mediana	Minimo	Máximo	n Ceros
URL	Lona	13	505.54	371.56	73.50%	569.00	0.00000	1,330.00	1
	Madera	179	782.93	1,144.65	146.20%	430.00	8.00000	7,231.00	0
	Metálica	620	798.42	1,125.74	141.00%	445.50	0.00000	9,888.00	7
	Mixta	214	566.04	1,157.82	204.55%	238.00	0.00000	8,946.00	1
	Platón	85	600.80	890.09	148.15%	323.00	0.00000	5,942.00	9
	Termoking	28	569.86	1,049.00	184.08%	263.50	4.00000	5,319.00	0
log(URL)	Lona	13	2.32	0.99	42.74%	2.76	0.00000	3.12	1
	Madera	179	2.57	0.56	21.78%	2.63	0.90309	3.86	0
	Metálica	620	2.55	0.69	26.92%	2.65	0.00000	4.00	10
	Mixta	214	2.35	0.61	25.94%	2.38	0.00000	3.95	1
	Platón	85	2.20	1.00	45.32%	2.51	0.00000	3.77	10
	Termoking	28	2.32	0.69	29.65%	2.42	0.60206	3.73	0

Fuente: tabla propia.

Figura 22

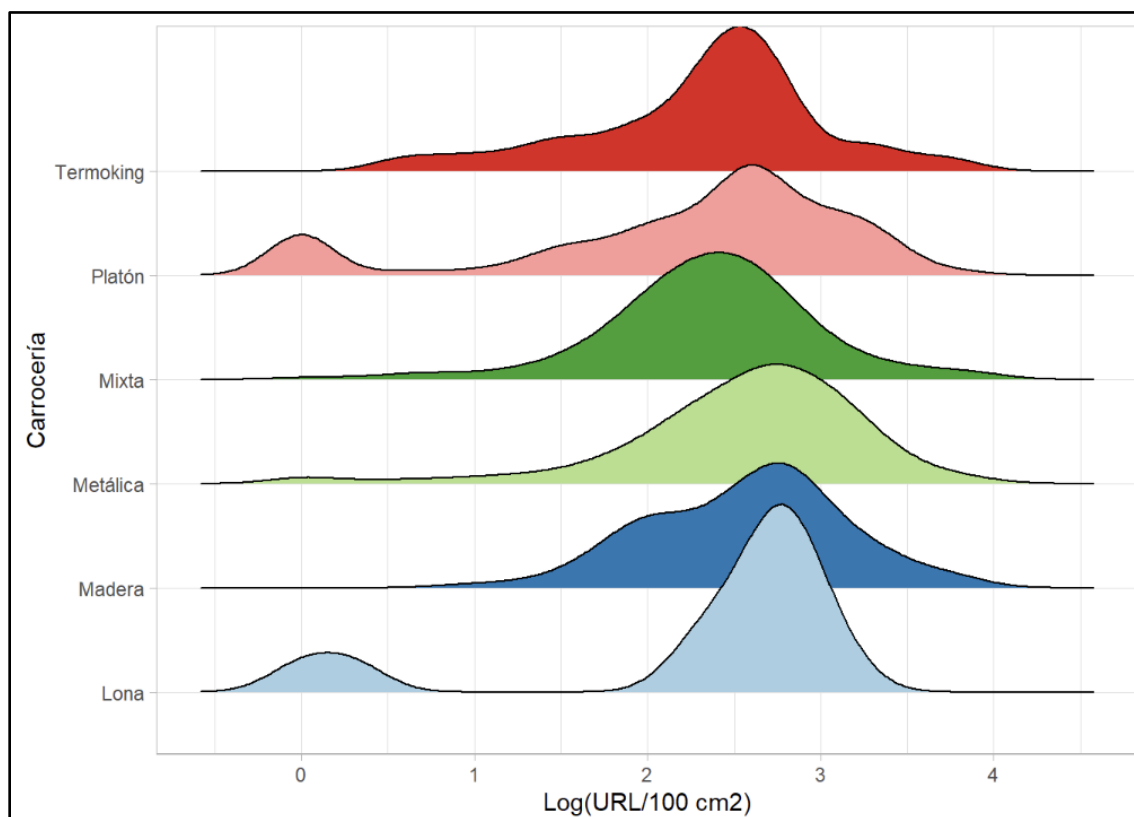
Distribución de las Muestras Según el Tipo de Carrocería



Fuente: gráfico propio.

Figura 23

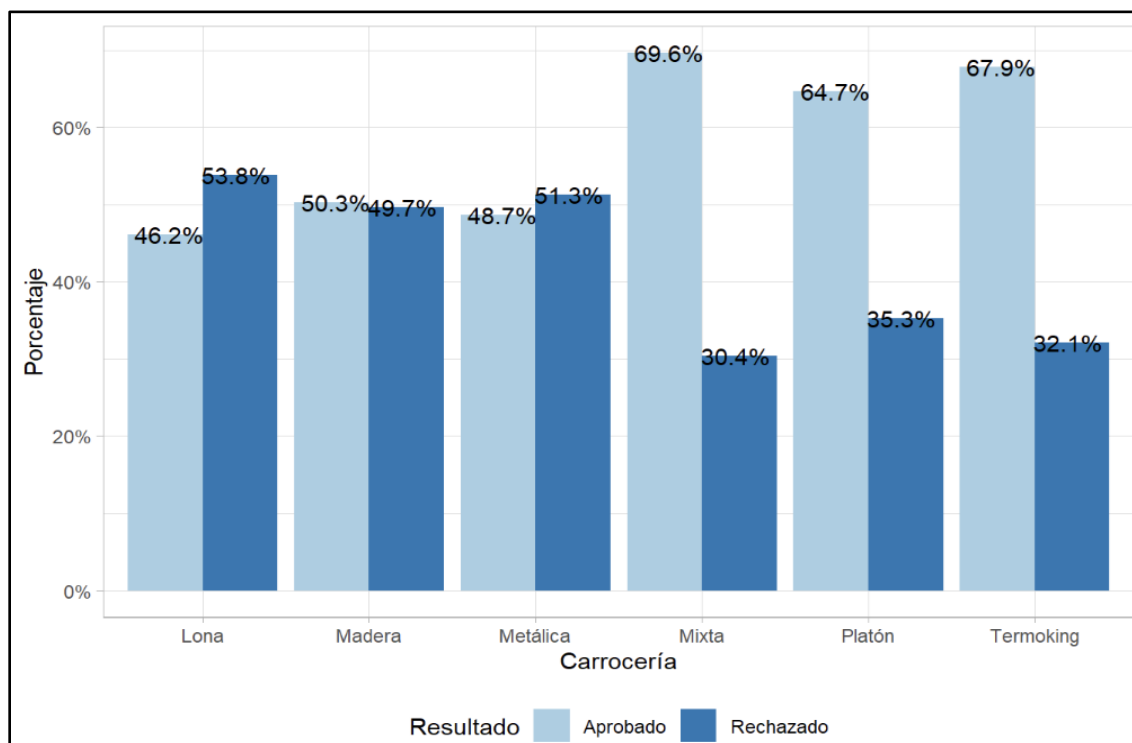
Distribución de la Densidad de las Mediciones en Log (URL/100 cm²) Según el Tipo de Carrocería



Fuente: gráfico propio.

Figura 24

Porcentaje de Aprobados y Rechazados Según el Tipo de Carrocería



Fuente: gráfico propio.

URL por Ubicación

Tabla 5

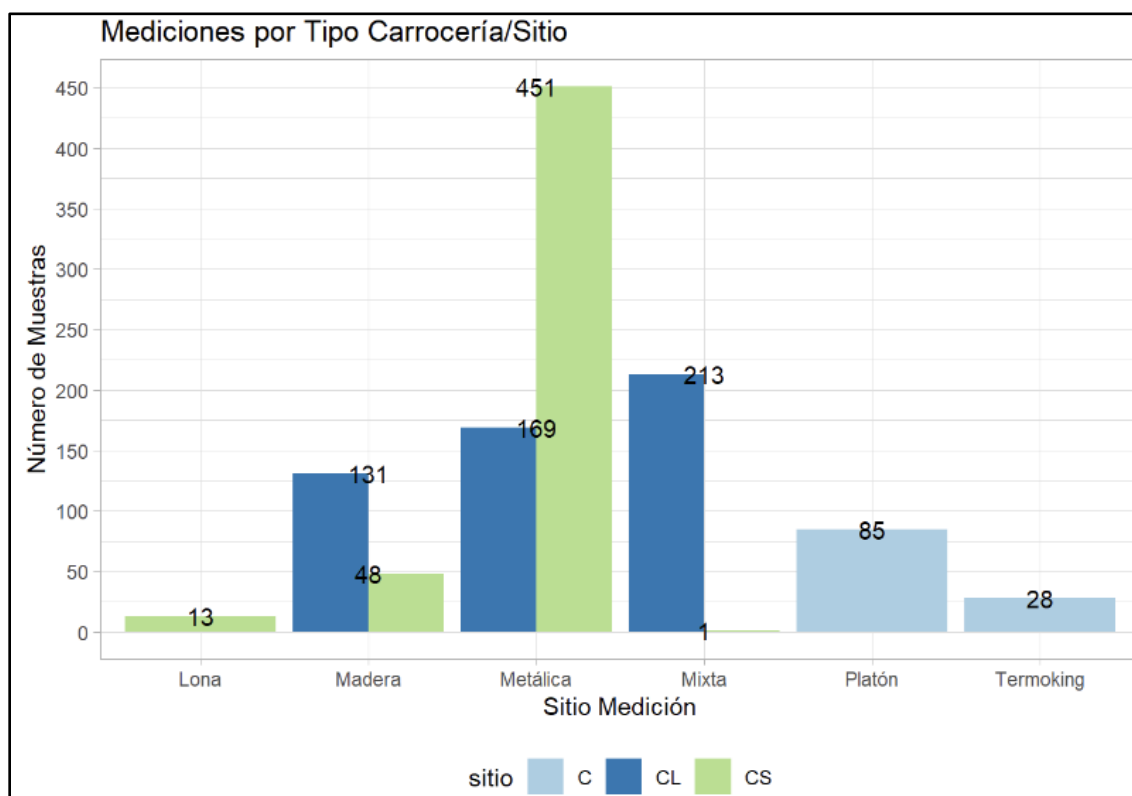
Distribución de las Mediciones Según la Ubicación.

Variable	Carrocería	sitio	n	Promedio	Desv. Estándar	Coef. Variación	Mediana	Minimo	Máximo	n Ceros
URL	Lona	CS	13	505.54	371.56	0.73	569.00	0.00	1,330.00	1
	Madera	CL	131	707.71	1,121.64	1.58	323.00	12.00	6,760.00	0
		CS	48	988.21	1,193.13	1.21	664.50	8.00	7,231.00	0
	Metálica	CL	169	510.66	969.07	1.90	183.00	0.00	6,263.00	2
		CS	451	906.25	1,161.84	1.28	549.00	0.00	9,888.00	5
	Mixta	CL	213	566.57	1,160.52	2.05	238.00	0.00	8,946.00	1
		CS	1	453.00			453.00	453.00	453.00	0
	Platón	C	85	600.80	890.09	1.48	323.00	0.00	5,942.00	9
	Termoking	C	28	569.86	1,049.00	1.84	263.50	4.00	5,319.00	0
log(URL)	Lona	CS	13	2.32	0.99	0.43	2.76	0.00	3.12	1
	Madera	CL	131	2.50	0.56	0.22	2.51	1.08	3.83	0
		CS	48	2.77	0.51	0.18	2.82	0.90	3.86	0
	Metálica	CL	169	2.23	0.71	0.32	2.26	0.00	3.80	2
		CS	451	2.66	0.64	0.24	2.74	0.00	4.00	8
	Mixta	CL	213	2.35	0.61	0.26	2.38	0.00	3.95	1
		CS	1	2.66			2.66	2.66	2.66	0
	Platón	C	85	2.20	1.00	0.45	2.51	0.00	3.77	10
	Termoking	C	28	2.32	0.69	0.30	2.42	0.60	3.73	0

Fuente: tabla propia.

Figura 25

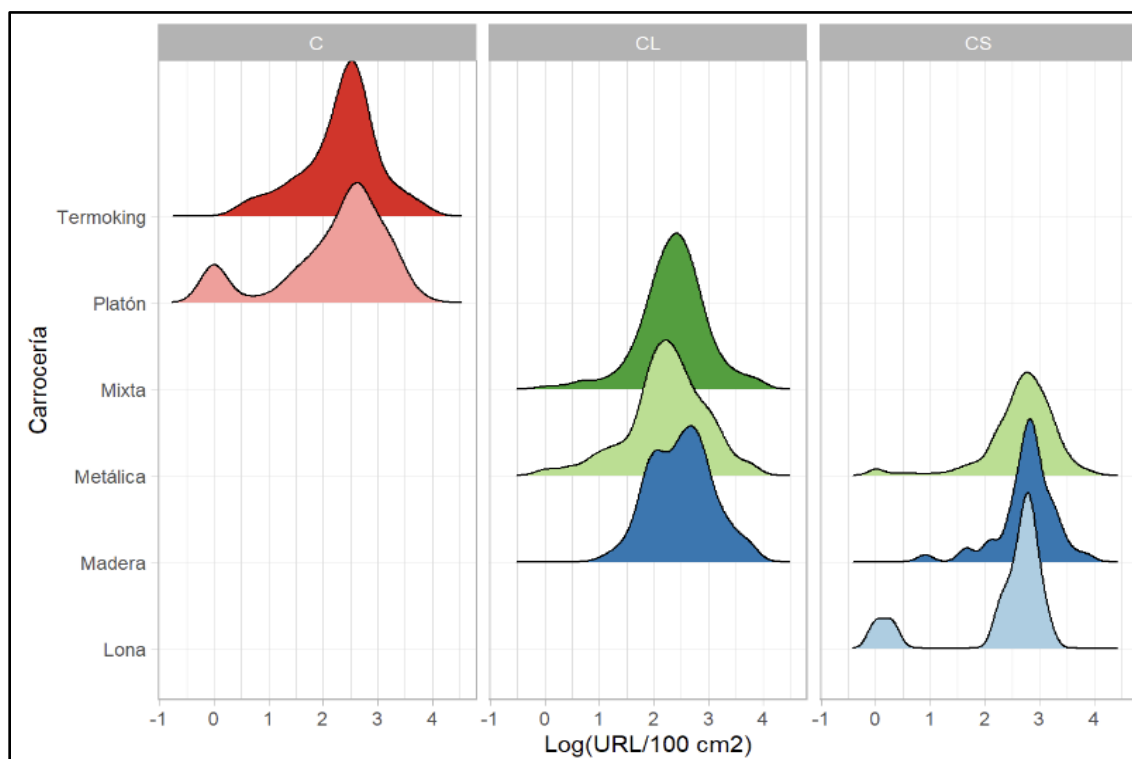
Distribución del Número de Muestras Según la Ubicación (Tipo de Carrocería/Sitio)



Fuente: gráfico propio.

Figura 26

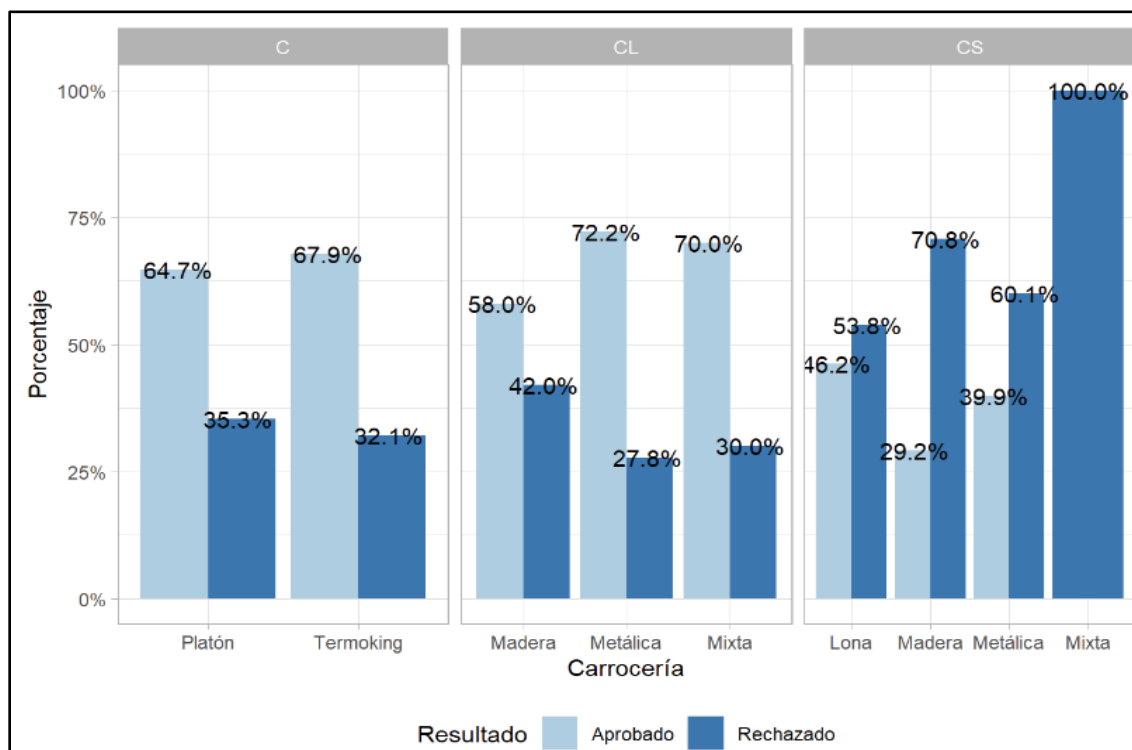
Densidad de las Mediciones en Log (URL/100 cm²) Según el Tipo de Carrocería y el Sitio de Medición



Fuente: gráfico propio.

Figura 27

Porcentaje de Aprobados y Rechazados Según el Tipo de Carrocería y el Sitio de Medición.



Fuente: gráfico propio.

*URL por Usuario***Tabla 6***Distribución de los Muestreos Según el Usuario que los Realizó*

Variable	Usuario	n	Promedio	Desv. Estándar	Coef. Variación	Mediana	Minimo	Máximo	n Ceros
URL	Usuario 1	121	1055.15	1,632.67	1.55	503.00	0.000000	8,627.00	1
	Usuario 2	164	835.95	996.63	1.19	456.50	0.000000	5,319.00	3
	Usuario 3	120	713.30	1,232.88	1.73	382.50	0.000000	9,888.00	3
	Usuario 4	118	581.06	1,135.47	1.95	255.50	0.000000	7,726.00	1
	Usuario 5	98	627.02	1,032.50	1.65	364.50	5.000.000	8,946.00	0
	Usuario 6	66	602.45	616.06	1.02	411.50	28.000.000	3,325.00	0
	Usuario 7	133	849.90	1,259.86	1.48	440.00	0.000000	8,254.00	2
	Usuario 8	112	809.22	1,017.36	1.26	469.50	0.000000	7,231.00	3
	Usuario 9	72	694.69	1,036.93	1.49	364.00	0.000000	6,239.00	3
	Usuario 10	135	415.31	513.11	1.24	268.00	0.000000	3,893.00	2
log(URL)	Usuario 1	121	2.64	0.64	0.24	2.70	0.000000	3.94	2
	Usuario 2	164	2.55	0.73	0.29	2.66	0.000000	3.73	3
	Usuario 3	120	2.46	0.71	0.29	2.58	0.000000	4.00	3
	Usuario 4	118	2.28	0.75	0.33	2.41	0.000000	3.89	1
	Usuario 5	98	2.44	0.63	0.26	2.56	0.698970	3.95	0
	Usuario 6	66	2.58	0.45	0.17	2.61	1.447.158	3.52	0
	Usuario 7	133	2.57	0.66	0.26	2.64	0.000000	3.92	2
	Usuario 8	112	2.57	0.68	0.26	2.67	0.000000	3.86	3
	Usuario 9	72	2.37	0.90	0.38	2.56	0.000000	3.80	6
	Usuario 10	135	2.31	0.62	0.27	2.43	0.000000	3.59	2

Fuente: tabla propia.

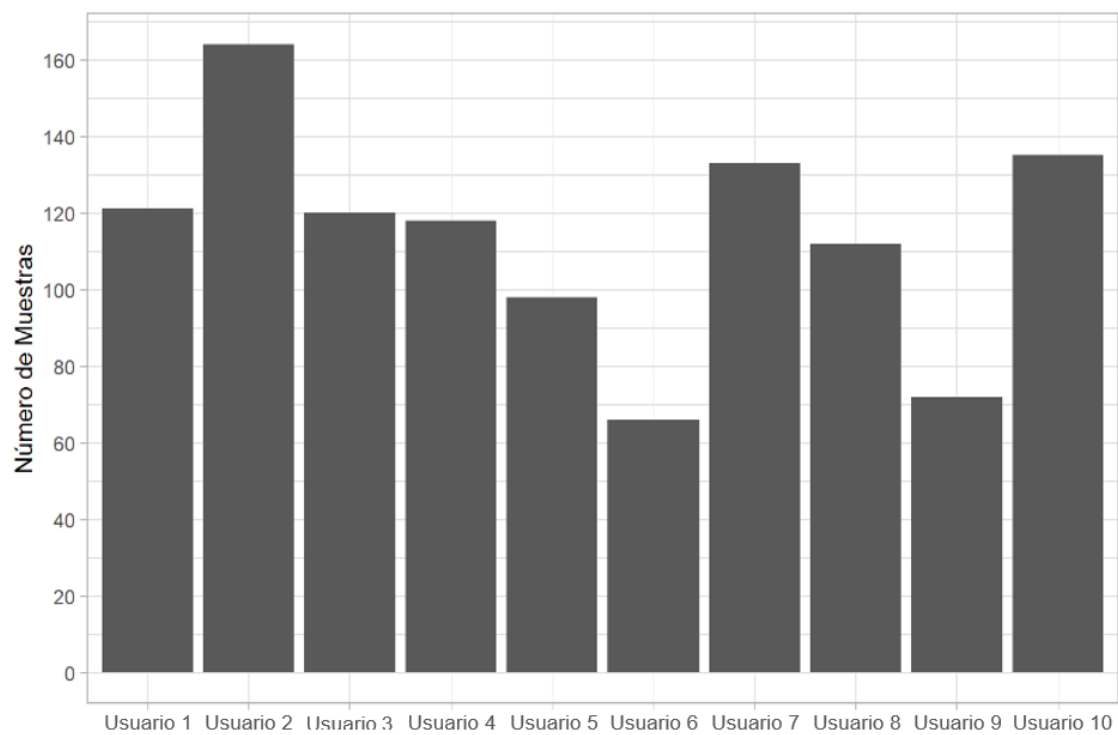
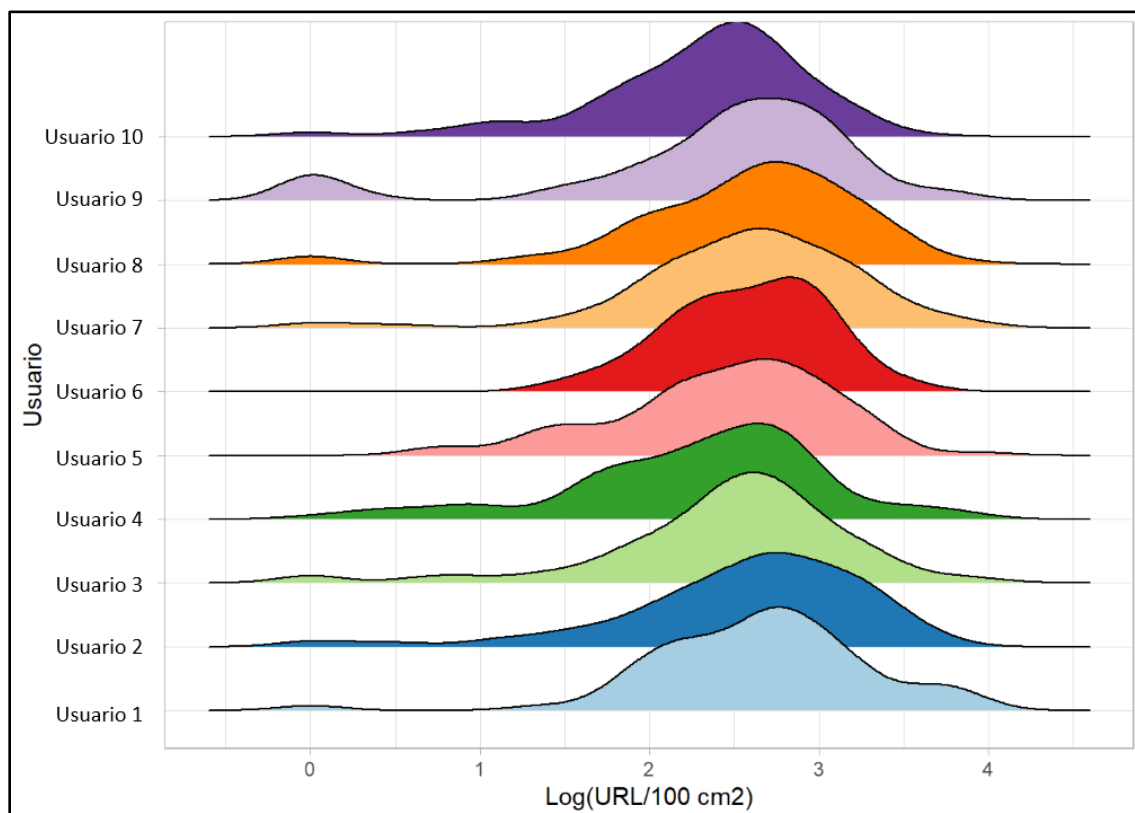
Figura 28*Número de Mediciones por Usuario**Fuente: gráfico propio.*

Figura 29

Densidad de Muestras Log (URL/100 cm²) por Usuario que lo Realizó



Fuente: gráfico propio.

Tabla 7

Diferencia Estadística Según los Valores Promedio de Log (URL) por Usuario

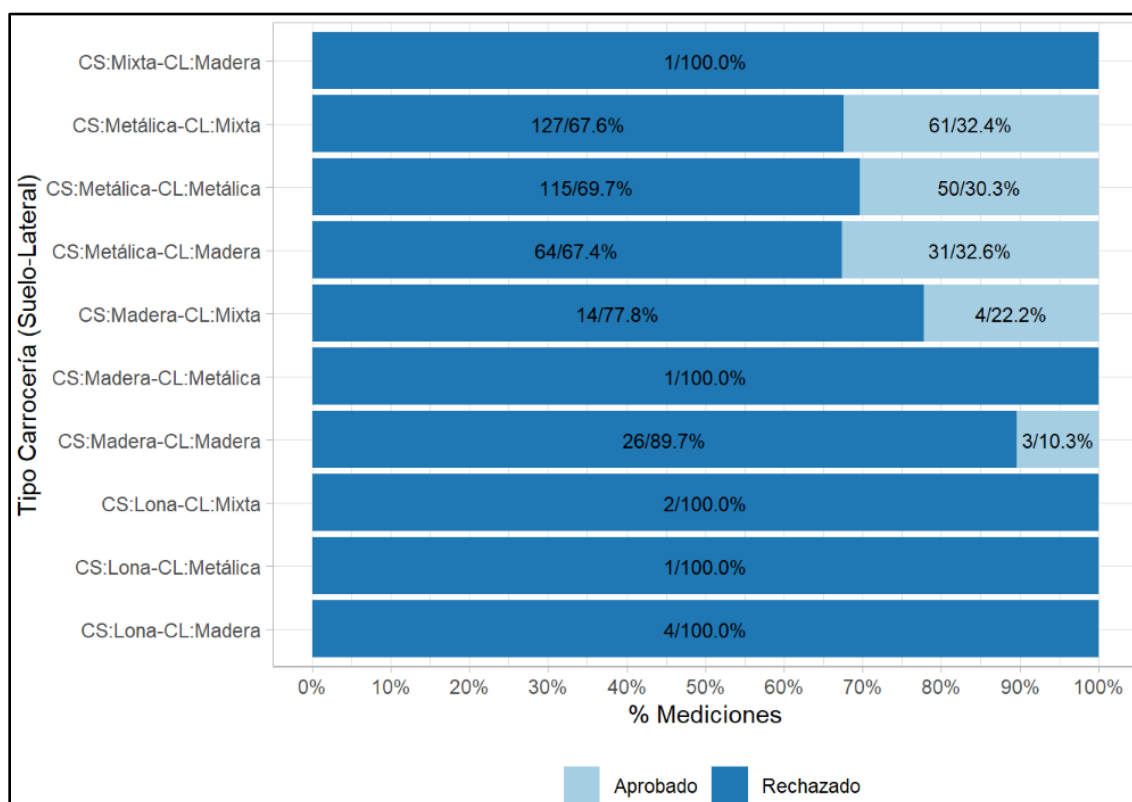
Usuario	Log(URL)	Grupo
Usuario 1	2.642102	a
Usuario 2	2.577718	ab
Usuario 3	2.573232	ab
Usuario 4	2.568829	ab
Usuario 5	2.551334	ab
Usuario 6	2.456580	ab
Usuario 7	2.437485	ab
Usuario 8	2.371541	ab
Usuario 9	2.312771	b
Usuario 10	2.277995	b

Fuente: tabla propia.

Combinación de Tipos de Carrocería

Figura 30

Porcentaje de Aceptación de Camiones de Acuerdo con la Combinación de Tipos de Carrocería en CS y CL.



Fuente: gráfico propio.

Discusión

Realizando un contraste entre la información recopilada de la literatura y la metodología implementada en el trabajo, se encontró que los procedimientos se llevaron a cabo bajo fundamentos técnicos; se implementó de forma adecuada la técnica de la luminometría en base a la medición de la luz (Figura 7) emitida por la reacción del complejo enzimático luciferina/luciferasa y el ATP (Figura 6) proveniente de la materia orgánica obtenida en los hisopados de la carrocería de los vehículos realizados en cada muestreo.

El uso de la transformación logarítmica de los resultados fue muy acertado ya que permite una mejor lectura e interpretación de los datos obtenidos sin alterar los resultados, ya que esta transformación mantiene la proporción de estos. (Tabla 1)(Figura 14)(Figura 15)

Momento de Medición

En cuanto a los resultados, se puede decir que aparentemente no hubo efecto de la hora de medición sobre el resultado obtenido en las mediciones realizadas, cabe aclarar que el día 10 de septiembre (domingo) solo se realizaron mediciones en horas de la noche, ya que en el día, la planta de producción de alimentos no está en servicio por lo que no hubo vehículos para muestrear, los días 9 y 16 de septiembre (ambos días sábados) el número fue menor, debido a que la planta de alimentos solo presta servicio hasta medio día y si comparamos los demás días, se observa que hubo un comportamiento del número de muestreos similar. (Figura 16)(Figura 17), para los resultados según la hora representados en la Figura 18, se observa que, aunque hay resultados salidos del promedio, son muy pocos, lo que mantiene la tendencia de los resultados concentrados en un mismo rango por lo que aparentemente no hubo efecto de la hora de medición sobre el resultado obtenido en las mediciones realizadas.

Lugar de Medición y Tipo de Material:

Los resultados obtenidos por sitio de medición representados en la Tabla 2 muestran que para CL y CS hubo la misma cantidad de muestreos y que CS obtuvo el promedio más alto de URL, esto puede deberse al proceso de lavado, ya que cuando se lavan los laterales de la carrocería, todo este residuo cae al suelo de la carrocería y si no se hace un buen enjuague de este, gran parte de ese material orgánico se seca y queda en esta superficie. Para el tipo de carrocería donde los resultados están representados en la Tabla 4 y Figura 22, se observa que 620 datos de 1139 corresponden a la carrocería metálica, lo que representa el 54.43 % y que tanto la carrocería metálica como de madera, presentaron los promedios de URL más altos y siendo muy similares entre sí.

De acuerdo con lo representado en la Figura 24 se observa que tanto para la carrocería metálica como de madera existe una misma proporción de vehículos aprobados como rechazados y que para los vehículos tipo Platón y Termoking en su mayoría son aprobados, este resultado para el platón es de esperarse, debido a que estos vehículos normalmente no cargan animales, por lo que el contenido de materia orgánica se espera que sea menor, para el Termoking se puede esperar este resultado, ya que al ser vehículos que transportan canales a los expendios, deben pasar por un proceso de lavado y desinfección más riguroso, pero también se debe tener presente que al ser vehículos que ingresan a planta de beneficio, el exterior de su carrocería tiene mayor probabilidad de estar contaminada, por lo que a pesar de los resultados internos de los muestreos, no es el vehículo ideal en cuanto a bioseguridad para el cargue de alimento. Por último, para el tipo de carrocería Lona (sobresuelo), que sus resultados de rechazo son del 53.8% puede deberse a que el proceso de lavado de esta superficie es muy complejo por la gran variedad de materiales que pueden presentar.

Ubicación del Muestreo

Según los datos representados en la Tabla 5, donde se representan los resultados de los muestreos según la ubicación de la toma, se observa que la mayor cantidad de muestreos se realizaron en CS Metálica y que tanto esta como la CS Madera, presentaron los promedios de URL más elevados, lo que apoya la afirmación de la falla del proceso de lavado mencionado anteriormente y según la Figura 27, donde se representa el porcentaje de aprobados y rechazados según la ubicación de la muestra, se observa que para CS Mixta que fue el rechazo del 100%, no se debe tener en cuenta, ya que este dato representa a un solo vehículo, sin embargo, para las CS Lona, CS Madera y CS Mixta, donde en número de muestreos es mayor y si representa una población, todos presentaron porcentajes de rechazo del 53.8%, 70.8% y 60.1% respectivamente, lo que junto con los anteriores resultados, refleja en mal proceso de lavado y desinfección principalmente en el suelo de las carrocerías.

Conclusiones

Es importante conocer y entender la importancia de la bioseguridad en la producción porcícola, las fallas en alguno de los aspectos que dicho termino encierra, como lo es el proceso de lavado y desinfección de los vehículos, puede acarrear grandes problemas sanitarios en las granjas, los cuales a su vez tendrán repercusiones económicas, por tal motivo, este proceso se debe de realizar a conciencia, siguiendo todas las recomendaciones mencionadas y pasar de una evaluación visual y subjetiva a una evaluación apoyada en herramientas tecnológicas que ofrecen objetividad en los resultados, para así actuar como un “filtro sanitario” que permite proteger en el caso de la planta de alimentos de Porcicultores APA, a las mismas granjas del ingreso de nuevos entes patógenos o la recirculación de alguno ya presente en el predio, es decir, la luminometría como herramienta técnica basada en la bioluminiscencia del ATP, permite una evaluación rápida y objetiva para determinar el adecuado proceso de limpieza y desinfección y así cortar los ciclos de vida de los diferentes patógenos que afectan a la producción porcícola.

Referencias

- Alvarado, A., Cabahug, J., & Predicala, B. (2020). ATP bioluminescence method as a rapid tool for assessment of cleanliness of commercial animal transport trailers. Obtenido de <https://library.csbe-scgab.ca/docs/journal/62/C20525.pdf>
- Basicfarm. (30 de octubre de 2020). *Basicfarm*. Obtenido de <https://basicfarm.com/blog/que-es-detergente-alcalino-como-elegirlo/>
- Berthold. (s.f.). *Berthold*. Obtenido de <https://www.berthold.com/es/bioanalytic/knowledge/glosario/luminometro/>
- Bustamante, F., Nuñez, J., Arellano, M., Crot, W., Navarro, P., & Fuentes, R. (2018). Bioluminiscencia: Herramienta de Medición y Análisis en Lavado de Manos Clínico Aplicado a la Odontología. *International journal of odontostomatology*, 12(2), 161. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-381x2018000200160>
- Cabahug, J., Alvarado, A., & Predicala, B. Z. (17 de Julio de 2016). Rapid assessment of cleanliness of commercial hog transport trailers using ATP bioluminescence method. *ASABE Annual International Meeting*.
- Di Lalla, N. A. (2019). *Covidex*. (Covidex, Ed.) Obtenido de <https://www.covidex.com.ar/sin-categoria/luminometria/#:~:text=La%20luminometr%C3%ADa%20es%20una%20t%C3%A9cnica,como%20luz%20visible%20o%20UV.>
- FAO. (s.f.). *Faolex*. Obtenido de <https://faolex.fao.org/docs/pdf/per170960anx.pdf>
- Fernández B, A. (2019). Bacteriemia relacionada con el catéter y neumonía asociada a ventilación me-cánica: nuevas estrategias de erradicación del biofilm [tesis]. *Universidad*

- Complutense de Madrid, Facultad de Medicina*. Obtenido de <https://eprints.ucm.es/56658/1/T41279.pdf>
- Hollmann, B., & Perkins, M. (s.f.). Biofilms y su papel en la patogénesis. *British Society for Immunology*. Obtenido de Centro de Ciencias Biomoleculares Dean Walsh, Universidad de Nottingham: https://www.immunology.org/sites/default/files/2022-08/BIOFIL_1.pdf
- Higienda. (2013). SystemSURE Operators Manual V3.0.
- Ilyina, A. D., Cerda, F. R., Estrada, B. C., Dukhovich, A. F., Gaona, L. G., Garza, G. Y., & Rodríguez, M. J. (1998). Sistema Bioluminiscente Luciferina-Luciferasa de las Luciérnagas. Parte I: Propiedades Bioquímicas y Catalíticas de la Enzima Luciferasa. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 42(3), 99-108. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/475/47542301.pdf>
- Lasa, I., del Pozo, J. L., Penadés, J. R., & Leiv, J. (28 de Febrero de 2005). Biofilms bacterianos e infección. *An. Sist. Sanit. Navar*, 163-175.
- OIE. (2006). *OIE*. Obtenido de <https://www.woah.org/es/bioseguridad-y-prevencion-de-enfermedades/>
- Patiño Bello, D., Pérez Acevedo, L., & Torres Caicedo, M. (2018). Uso de biocidas y mecanismos de respuesta bacteriana. *Rev Cubana Inv Biom [Internet]*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v37n3/ibi14318.pdf>
- Pérez, G. (s.f.). *Adenosina trifosfato (ATP)*. Obtenido de Coenzima: https://www.coenzima.com/adenosina_trifosfato_atp

Romero González, A. (4 de Abril de 2020). Biofilm y resistencia antimicrobiana. *Arch méd Camagüey*.

Romero H, N. (31 de mayo de 2023). *¿Por qué brillan las luciérnagas?* Obtenido de ExpertoAnimal: <https://www.expertoanimal.com/por-que-brillan-las-luciernagas-26493.html>

Rye, C., Wise, R., Jurukovski, V., DeSaix, J., Choi, J., & Avissar, Y. (21 de octubre de 2016). The Cell, ATP: Adenosine Triphosphate. En OpenStax (Ed.), *Biology* (pág. 6). Houston, Texas, United States of America. Obtenido de <https://openstax.org/books/biology/pages/6-4-atp-adenosine-triphosphate>

Sandoval, M., Saade, D., Romero, A., Rodríguez, K., Sánchez, C., Salinas, K., & al, e. (2018). Nontypeable *Haemophilus influenzae*: mechanism of biofilm destruction. *Rev ANACEM*.